

**PENGARUH EKSTRAK *Litsea glutinosa* DAN *Cuscuta australis*
TERHADAP PENGHAMBATAN AKTIVITAS
ENZIM *DIPEPTIDYL PEPTIDASE-4*
(STUDI PENGEMBANGAN TERAPI DIABETES MELITUS TIPE 2)**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



TAQWATIN MA'RIFAH

G0013222

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

Surakarta

2016

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan Judul: **Pengaruh Ekstrak *Litsea glutinosa* dan *Cuscuta australis*
terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim *Dipeptidyl Peptidase-4*
(Studi Pengembangan Terapi Diabetes Melitus tipe 2)**

Taqwatin Ma'rifah, NIM: G0013222, Tahun: 2016

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Pada Hari Jumat, 16 Desember 2015

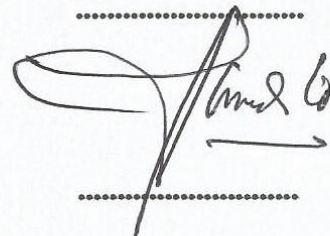
Pembimbing Utama

Nama : Yuliana Heri Suselo, dr., M.Sc.
NIP : 19800718 200604 2 001



Pembimbing Pendamping

Nama : Dono Indarto, dr., M.Biotech.St., Ph.D., AIFM
NIP : 19670104 199601 1 001

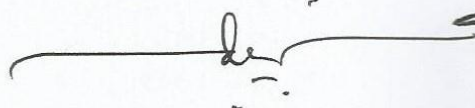


Penguji Utama

Nama : R. Aj. Sri Wulandari, dr., M.Sc.
NIP : 19780503 200608 2 001



Ketua Tim Skripsi

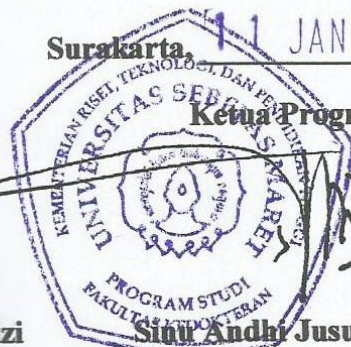


Kusmadewi Eka Damayanti, dr., M.Gizi
NIP 19830509 200801 2 005

Surakarta,

11 JAN 2017

Ketua Program Studi



Siti Andhi Jusup, dr., M.Kes.
NIP 19700607 200112 1 002

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan penulis juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 16 Desember 2016



Taqwatin Ma'rifah

NIM. G0013222

ABSTRAK

Taqwatin Ma'rifah, G0013222, 2016. Pengaruh Ekstrak *Litsea glutinosa* dan *Cuscuta australis* terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim *Dipeptidyl Peptidase-4* (Studi Pengembangan Terapi Diabetes Melitus tipe 2). Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Pendahuluan: Penghambat DPP-4 (sitagliptin) merupakan obat antidiabetik yang direkomendasikan setelah metformin. Penelitian sebelumnya menemukan fitokimia *actinodaphnine* dalam tanaman *Litsea glutinosa* dan *Cuscuta australis* memiliki kemiripan dengan sitagliptin dalam berinteraksi dengan DPP-4 secara komputasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak *Litsea glutinosa* dan *Cuscuta australis* terhadap penghambatan aktivitas enzim DPP-4 sebagai pengembangan terapi diabetes melitus tipe 2.

Metode Penelitian: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan *posttest only control group design*. Sebanyak 1×10^6 sel model kanker payudara (MCF-7) dimasukkan ke dalam setiap sumuran dari enam kelompok penelitian dengan tiga kali pengulangan. Kelompok Perlakuan 1 (KP1) diberi 341,13 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etanol *Litsea glutinosa* metode maserasi. Ekstrak etanol *Litsea glutinosa* metode *soxhletasi* dosis 1.114,18 $\mu\text{g/mL}$ diberikan pada Kelompok Perlakuan 2 (KP2). Sedangkan Kelompok Perlakuan 3 (KP3) diberi 259,5 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etanol *Cuscuta australis* metode *soxhletasi*. Kelompok kontrol terdiri dari tiga kelompok yaitu Kelompok Kontrol Negatif (KK-) tanpa pemberian ekstrak, KK Positif (KK+) diberi 541,7 $\mu\text{g/mL}$ sitagliptin dan KK Pelarut (KKpl) diberi DMSO. Jumlah sel hidup dan mati ditentukan dengan pengecatan tripan biru dan diamati dibawah mikroskop *inverted* perbesaran 100 x. Uji aktivitas enzim DPP-4 dilakukan dengan menggunakan substrat H-Gly-Pro-pNA setelah inkubasi 24 jam. Penentuan aktivitas enzim menggunakan rumus Beer-Lambert dan data dianalisis dengan uji One Way ANOVA ($\alpha = 0,05$) dilanjutkan uji LSD.

Hasil Penelitian: Aktivitas enzim DPP-4 terendah tampak pada KK (+) ($24,92 \pm 9,65 \text{ pmol.menit}^{-1}.\text{liter}^{-1}$ setiap 10^4 sel), yang diikuti oleh KK (-) dan KKpl ($38,05 \pm 20,56$ dan $74,28 \pm 51,32 \text{ pmol.menit}^{-1}.\text{liter}^{-1}$ setiap 10^4 sel). Aktivitas enzim KP 1, 2 dan 3 mengalami peningkatan (secara berurutan $185,00 \pm 93,68$; $829,76 \pm 405,801$; dan $74,10 \pm 69,04 \text{ pmol.menit}^{-1}.\text{liter}^{-1}$ setiap 10^4 sel). Analisis statistik menunjukkan hasil signifikan ($p < 0,001$). Uji *post hoc* memperlihatkan terdapat perbedaan bermakna antara KK (-) – KP1; KK (-) - KP2; KK (+) – KKpl; KK (+) - KP1; KK (+) - KP2; KKpl - KP1; KKpl - KP2; KP1 - KP2; KP2 - KP3 dan KP1-KP3.

Simpulan Penelitian: Tidak terdapat pengaruh antara ekstrak *Litsea glutinosa* dan *Cuscuta australis* terhadap penghambatan aktivitas enzim DPP-4.

Kata kunci: Diabetes, penghambat DPP-4, *Litsea glutinosa*, *Cuscuta australis*, sitagliptin

ABSTRACT

Taqwatin Ma'rifah, G0013222, 2016. Effect of *Litsea glutinosa* and *Cuscuta australis* Extract Against *Dipeptidyl Peptidase-4* Enzyme Activity (Study of Type 2 Diabetes Mellitus Therapeutic Development). Mini Thesis. Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

Background: DPP-4 inhibitors (sitagliptin) is recommended for diabetes treatment after metformin. Previous studies showed that a phytochemical, *actinodaphnine*, in *Litsea glutinosa* and *Cuscuta australis* plants has a similarity with sitagliptin in terms of computational interaction with DPP-4. The aim of this study was to investigate the effect of *Litsea glutinosa* and *Cuscuta australis* extract on inhibition of DPP-4 enzyme activity as the development of type 2 diabetes mellitus therapy.

Methods: This study was a laboratory experiment with posttest only control group design. A total of 1×10^6 breast cancer cell lines (MCF-7) were transferred into each of three wells of six experimental groups. Treatment group 1 (KP1) was given 341,13 mg/mL ethanol maceration extract of *Litsea glutinosa*. The ethanol soxhletation extract of *Litsea glutinosa* doses 1.114,18 $\mu\text{g/mL}$ was given to treatment group 2 (KP2). Treatment group 3 (KP3) was given 259,5 $\mu\text{g/mL}$ of soxhletation ethanol *Cuscuta australis* extract. The control group consisted of three groups, Negative Control (KK -) without the extract treatment, KK Positive (KK+) was given 541,7 mg / mL of sitagliptin and KK Solvents (KKpl) was given DMSO. Live and death cells were determined using trypan blue staining and observed under an inverted microscope with 100x magnification. The DPP-4 enzyme assay was performed using H-Gly-Pro-pNA substrates after 24 hour incubation. Calculation of enzyme activity used the Beer-Lambert formula and data were analyzed by using One Way ANOVA ($\alpha = 0,05$), followed by LSD test.

Results: Lowest DPP-4 enzyme activity was observe in KK (+) ($24,92 \pm 9,65$ pmol.menit⁻¹.liter⁻¹ every 10^4 cells), followed by KK (-) and KKpl ($38,05 \pm 20,56$ and $74,28 \pm 51,32$ pmol.menit⁻¹.liter⁻¹ every 10^4 cells). The enzyme activities of KP 1, 2 and 3 were increased ($185,00 \pm 93,68$; $829,76 \pm 405,801$; and $74,10 \pm 69,04$ pmol.menit⁻¹.liter⁻¹ every 10^4 cells respectively). Statistical analysis showed significant result ($p < 0,001$). Post hoc test showed there were significant difference between KK (-) - KP1; KK (-) - KP2; KK (+) - KKpl; KK (+) - KP1; KK (+) - KP2; KKpl - KP1; KKpl - KP2; KP1 - KP2; KP2 - KP3 and KP1-KP3.

Conclusion: There are no effect between *Litsea glutinosa* extract and *Cuscuta australis* in the inhibition of DPP-4 enzyme activity.

Keywords: Diabetes, DPP-4 inhibitor, *Litsea glutinosa*, *Cuscuta australis*, sitagliptin

PRAKATA

Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala berkah, rahmat, serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Pengaruh Ekstrak *Litsea glutinosa* dan *Cuscuta australis* terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim *Dipeptidyl Peptidase-4* (Studi Pengembangan Terapi Diabetes Melitus tipe 2)” ini dengan baik.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini tidak lepas dari kerjasama dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan penuh rasa hormat, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Hartono, dr., M.Si selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Yuliana Heri Suselo, dr., M.Sc. selaku pembimbing utama dan Dono Indarto, dr., M.Biotech. St., Ph.D., AIFM selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan saran, bimbingan, dan motivasi bagi penulis.
3. R. Aj. Sri Wulandari, dr., M.Sc. selaku penguji utama atas kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
4. Kusmadewi Eka Damayanti, dr., M.Gizi selaku Ketua Tim Skripsi FK UNS, Yulia Sari, S.Si, M.Si selaku Sekretaris Tim Skripsi FK UNS dan Bp. Sunardi selaku Sekretariat Tim Skripsi FK UNS
5. Ayahanda Drs.Taslim, Ibunda Sarmini dan saudara tercinta Firman Ardhi Hastuti beserta seluruh keluarga besar yang senantiasa mendoakan, memberikan dukungan dan semangat dalam penyusunan skripsi ini.
6. Aninditya Verinda P, Mila Ulfia, Nurul Azmi, Pratitha Nityasewaka, teman-teman Lubosce, asisten Biomedik 2013 dan seluruh sahabat rekan sejawat Pendidikan Dokter 2013 FK UNS atas segala kebersamaan dan bantuannya selama ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, yang turut membantu proses penelitian ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini. Saran, koreksi, dan tanggapan dari semua pihak sangat penulis harapkan. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh pembaca.

Surakarta, 16 Desember 2016

Taqwatin Ma’rifah

DAFTAR ISI

PRAKATA	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. LANDASAN TEORI ..	7
A. Tinjauan Pustaka	7
1. Diabetes Melitus	7
a. Gambaran umum	7
b. Penatalaksanaan.....	8
2. Penghambat DPP-4 (Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor)	17
a. Gambaran umum enzim	17
b. <i>Dipeptidyl peptidase-4</i>	17
c. Pengembangan terapi penghambat DPP-4	20
3. <i>Litsea glutinosa</i> (Adem Ati)	23

4. <i>Cuscuta australis</i> (Tali Putri)	26
5. Ekstrak <i>Litsea glutinosa</i> dan <i>Cuscuta australis</i>	28
6. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim DPP-4 pada Sel MCF-7	32
B. Kerangka Pemikiran	35
C. Hipotesis	36
BAB III. METODE PENELITIAN	37
A. Jenis Penelitian	37
B. Lokasi Penelitian	37
C. Objek Penelitian	37
1. Populasi	37
2. Sampel	37
D. Rancangan Penelitian	38
E. Identifikasi Variabel Penelitian	40
F. Definisi Operasional Variabel	40
G. Alat dan Bahan Penelitian.....	42
H. Cara Kerja	42
1. Pembuatan ekstrak daun adem ati (<i>Litsea glutinosa</i>) dan tali putri (<i>Cuscuta australis</i>)	42
a. Persiapan Tanaman.....	42
b. Proses Ekstraksi	43
2. Pengenceran larutan stok ekstrak dan sitagliptin.....	43
3. Persiapan sel MCF-7	44
4. Perlakuan sel	45

5. Uji aktivitas enzim	45
I. Teknik Analisis Data.....	47
BAB IV. HASIL PENELITIAN	48
A. Hasil Penghitungan Jumlah Sel dengan atau Tanpa Pemberian Ekstrak <i>Litsea glutinosa</i> dan <i>Cuscuta australis</i>	48
B. Aktivitas Enzim DPP-4 Sel MCF-7 dengan atau Tanpa Pemberian Ekstrak <i>Litsea glutinosa</i> dan <i>Cuscuta australis</i>	49
C. Hasil Analisis Statistik	51
BAB V. PEMBAHASAN	53
A. Analisis Data	53
B. Keterbatasan Penelitian.....	64
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	65
A. Simpulan	65
B. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Klasifikasi DM	8
Tabel 4.1. Ringkasan <i>Post Hoc Multiple Comparisons</i> Nilai Viabilitas Sel Nilai Viabilitas Sel dan Nilai Aktivitas Enzim	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Perkembangan Terapi Medikamentosa terhadap Penyakit DM	27
Gambar 2.2. Struktur Molekul DPP-4.....	31
Gambar 2.3. Mekanisme Kerja Penghambat DPP-4.....	20
Gambar 2.4. Hasil Visualisasi antara <i>Actinodaphnine</i> Dibanding Sitagliptin.....	23
Gambar 2.5. Tanaman <i>L. glutinosa</i> (Adem Ati)	25
Gambar 2.6. Tanaman <i>Cuscuta australis</i> (Tali Putri).....	27
Gambar 2.7. MCF-7 <i>Cell Lines</i> dengan Perbesaran 400 Kali	33
Gambar 2.8. Skema Kerangka Pemikiran	35
Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian.....	38
Gambar 4.1. Grafik Rerata Viabilitas Sel setelah Inkubasi 24 Jam	48
Gambar 4.2. Grafik Rerata Penghitungan Rerata Nilai Aktivitas Enzim setiap 10^4 Sel	50

DAFTAR SINGKATAN

DM	: Diabetes Melitus
NICE	: <i>National Institute for Health and Care</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
AMPK	: <i>Adenosine Monophosphate–Kinase</i>
OCT-1	: <i>Organic Cation Transporter-1</i>
SLC47A1	: <i>Solute Carrier Family 47 Member 1</i>
SLC47A2	: <i>Solute Carrier Family 47 Member 2</i>
STK11	: <i>Serine/Threonine Kinase 11</i>
SLC22A1	: <i>Solute Carrier Family 22 Member 1</i>
MATE1	: <i>Multidrug And Toxin Extrusion Protein 1</i>
PPAR-	: <i>Peroxisome–Proliferator–Activated–Receptor-</i>
RxR	: <i>Retinoic x Receptor</i>
GLUT	: <i>Glucose Transporters</i>
HDL	: <i>High Desity Lipoprotein</i>
LDL	: <i>Low Desity Lipoprotein</i>
ES	: Efek samping
SUR1	: <i>Sulfonilurea Receptor 1</i>
GLP-1	: <i>Glucagon Like Peptide 1</i>
GIP	: <i>Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide</i>

DPP-4	: <i>Dipeptidyl Peptidase-4</i>
HbA1C	: <i>Hemoglobin A1c</i>
FAP	: <i>Fibroblast Activation Protein</i>
ADA	: <i>Adenosine Deaminase</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
KK (-)	: <i>Kelompok Kontrol Negatif</i>
KK (+)	: <i>Kelompok Kontrol Positif</i>
KKpl	: <i>Kelompok Kontrol Pelarut</i>
KP 1	: <i>Kelompok Perlakuan 1</i>
KP 2	: <i>Kelompok Perlakuan 2</i>
KP 3	: <i>Kelompok Perlakuan 3</i>
MK	: <i>Media kultur</i>
DMSO	: <i>Dimethyl sulfoxide</i>
FBS	: <i>Foetal Bovine Serum</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
LAF	: <i>Laminar Air Flow</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman

Lampiran 2. Foto Sel

Lampiran 3. Data Hasil Penelitian

Lampiran 4. Hasil Analisis Data secara Statistik

Lampiran 5. Dokumentasi Kegiatan